BIOPUR KIT EXTRAÇÃO MINI CENT CENTRIFUGAÇÃO

Instruções de Uso

1. USO PRETENDIDO

O **BIOPUR Kit Extração Mini CENT Centrifugação** é a ferramenta ideal para extração e purificação manual simples, rápida e eficiente de DNA genômico empregando placa filtro de 96 poços. Devido ao alto grau de pureza, o DNA extraído está pronto para ser utilizado em análises de diagnóstico *in vitro* e em outras aplicações. É aplicado para as seguintes amostras:

- Sangue total de mamíferos;
- Creme leucocitário (buffy coat);
- Sangue de não mamíferos, tais como aves e peixes;
- Fluido cerebroespinhal (CSF);
- Medula óssea;
- Swabs ou solução de enxágue de swabs.

Não existe estudo de validação para a extração de DNA genômico de células isoladas ou oriundas de cultura, tecidos, manchas de sangue seco, amostras de urina ou fezes, bactérias, fungos, parasitas ou para extração de RNA. A aplicação do kit para a extração e purificação de DNA viral não foi avaliada. Para outras validações entrar em contato com o nosso Laboratório.

O **BIOPUR Kit Extração Mini CENT Centrifugação** é designado para o processamento de múltiplas amostras simultaneamente. O procedimento é rápido e não requer uma extração com fenol e clorofórmio ou precipitação em etanol, requerendo mínima interação com o usuário. O procedimento foi desenvolvido para evitar contaminação cruzada de amostras e permitir um manuseio seguro de amostras potencialmente contaminantes. Devido à alta pureza, o DNA genômico extraído fica pronto para uso em um grande painel de aplicações em Biologia Molecular ou poderá ser armazenado a -20°C para uso subsequente.

Aplicações em Biologia Molecular:

- PCR;
- Análise RFLP;
- Digestão por enzima de restrição;
- Hibridização;
- Tipagem HLA;
- Análise SNP;
- Genotipagem.

O produto é indicado para uso por profissionais treinados em técnicas de biologia molecular. Quaisquer resultados gerados utilizando o procedimento de preparação de amostras em conjunto com qualquer análise de diagnóstico devem ser interpretados considerando outras conclusões clínicas e laboratoriais. Para minimizar irregularidades nos resultados de diagnósticos, controles adequados devem ser empregados.

2. CARACTERÍSTICAS DO PRODUTO

AMOSTRA INICIAL	RENDIMENTO	TEMPO	RAZÃO
1 -200 µL de sangue total de mamíferos 1 – 30 µL de creme leucocitário (buffy coat) 1 – 25 µL de sangue total de não mamíferos 1 – 200 µL fluido cerebroespinhal 1 – 20 µL de medula óssea Swabs ou solução de enxágue de swabs	De 3 – 10 µg, dependendo da qualidade, origem e idade da amostra, seu transporte e armazenamento	70 minutos	A260/A280: 1.6-2.0

A quantidade de DNA purificado depende do tipo de amostra e do número de células presentes na amostra (que varia conforme a idade do paciente e seu estado de saúde – e conforme condições de transporte, armazenamento e idade das amostras).

Normalmente, uma amostra de 200 µL de sangue total (contagem de células brancas – intervalo de 3 x 10^6 a 1 x 10^7 células/mL) de um indivíduo sadio rende de 3 a 10 µg de DNA. O rendimento típico do kit é de 3 a 10 µg de DNA. Se uma amostra de sangue total for tratada com soluções tampão contendo anticoagulantes, a contagem total de leucócitos diminuirá e o rendimento de DNA do processo de extração será reduzido. O rendimento pode ser aumentado, se o tempo de incubação com o Tampão de Eluição pré-aquecido for prolongado.

Para a maioria das amostras de sangue total, uma única eluição com 200 µL de Tampão de Eluição é o suficiente. Para amostras com elevada concentração de células brancas, aproximadamente 80% do DNA será eluído nos primeiros 200 µL e os outros 20% na eluição seguinte de 200 µL.

O rendimento e a qualidade do DNA genômico extraído é aplicável em qualquer sistema de detecção de diagnóstico molecular. Os testes de diagnóstico devem ser realizados de acordo com as especificações do fabricante.

3. COMPOSIÇÃO DO KIT

INFORMAÇÕES PRINCIPAIS	1x96 (Amostra)	4x96	12x96
Código do produto	BP082-96	BP079-384	BP080-1152
Tampão de Lise HL	1 x 25 mL	1 x 80 mL	3 x 80 mL
Proteinase K*	2 x Tipo G* (volume final 2x1100 µL)	1 x Tipo I* (volume final 1x8 mL)	1 x Tipo K* (volume final 1x25 mL)
Tampão de Ligação HL	2 x 11 mL	1 x 80 mL	3 x 80 mL
Tampão de Lavagem I*	1 x 40 mL* (volume final 1x80 mL)	3 x 40 mL* (volume final 3x80 mL)	3 x 125 mL* (volume final 3x250 mL)
Tampão de Lavagem II*	1 x 45 mL* (volume final 1x150 mL)	4 x 45 mL* (volume final 4x150 mL)	4 x 123 mL* (volume final 4x410 mL)
Tampão de Eluição	1 x 20 mL	1 x 80 mL	3 x 80 mL
Placa de Ligação de DNA-Tipo C	1 unid.	4 unid.	12 unid.
Placa de Coleta 2 mL	2 unid.	8 unid.	24 unid.
Placa de Eluição 0,5 mL	1 unid.	4 unid.	12 unid.
Filme Adesivo	3 unid.	12 unid.	36 unid.
Tampa de Placa	1 unid.	4 unid.	12 unid.
Manual de Instruções	1 unid.	1 unid.	1 unid.

** Verificar item 8 - Reagentes e Equipamentos necessários, mas não fornecido e item 9 - Preparo dos Reagentes.*

4. ARMAZENAMENTO DOS REAGENTES

Todos os tampões e componentes do **BIOPUR Kit Extração Mini CENT Centrifugação** devem ser armazenados em temperatura ambiente entre 15 e 30°C e, sob estas condições, são estáveis até a data de validade impressa na embalagem.

OBS.: Após abertura do kit, armazenar a Proteinase K liofilizada em temperatura refrigerada (2 a 8ºC).

Proteinase K

A Proteinase K reconstituída deve ser armazenada a -20°C; recomenda-se dividir a solução em alíquotas para armazenamento em freezer. Congelamentos e descongelamentos repetidos devem ser evitados. Esta solução pode, eventualmente, apresentar aspecto leitoso, principalmente em função de repetidos ciclos de congelamento e descongelamento, armazenamento prolongado ou diluição errada. Tais situações devem ser evitadas. Entretanto, verificou-se que esse aspecto leitoso não interfere no desempenho do produto. Não é recomendado dar *spin* na solução leitosa, pois pode haver formação de *pellet*, levando à perda de atividade.

Tampões de Lavagem

Os Tampões de Lavagem I e II, nos quais foi adicionado etanol, devem ser fechados e armazenados apropriadamente em temperatura ambiente entre 15 e 30°C.

Antes de cada uso, ter certeza que os componentes estão em temperatura ambiente. Se alguma solução apresentar precipitado, dissolvê-lo com cuidadoso aquecimento até 30°C.

5. INFORMAÇÃO DE SEGURANÇA

Sempre que estiver trabalhando com soluções químicas e amostras biológicas, EPIs são recomendados, conforme normas de segurança regulamentadas.

Depois de receber o kit, verificar se as embalagens dos componentes estão danificadas ou se há vazamento dos líquidos. Se os frascos de tampões estiverem danificados ou com vazamento, usar luvas e óculos de proteção ao descartá-los, para evitar acidentes.

Não usar componentes danificados, pois eles podem gerar baixo rendimento.

Sempre trocar as ponteiras entre as transferências de líquidos para evitar a contaminação cruzada.

É recomendado o uso de ponteiras com filtro.

Toda a centrifugação deve ser realizada em temperatura ambiente.

Não misturar componentes de kits diferentes, se não forem do mesmo lote.

Evitar contaminação microbiana dos reagentes do kit.

Para minimizar risco de contaminações é recomendado trabalhar em câmara de fluxo laminar.

Este kit deve ser usado apenas por pessoal treinado.

Armazenar os químicos e plásticos em condições próprias para uso em laboratório.

Os resíduos gerados pelo uso dos kits não foram testados. Contaminações causadas pelos resíduos são raríssimas, mas não podem ser completamente descartadas. Portanto, os resíduos devem ser considerados como material infeccioso e devem ser manuseados de acordo com as normas de segurança regulamentadas.

Se forem necessárias mais informações a respeito do produto, favor entrar em contato com a Biometrix solicitando a Ficha de Informações de Segurança de Produto Químico - FISPQ do produto.

Ver a seguir classificação de riscos e frases de segurança utilizadas internacionalmente, que se aplicam aos componentes do **BIOPUR Kit Extração Mini CENT Centrifugação:**

PRODUTO	RISCOS
Tampão de Lise HL	R36, S2, 24
Tampão de Ligação HL	R11/22/41/67, S16/24/25/26
Proteinase K	R36/37/38/42, S2/22/24/26/36/37
Tampão de Lavagem I	R20/21/22/32/52/53, S2/13/61

LEGENDA DE RISCOS	
R11	Altamente inflamável.
R20/21/22	Nocivo por inalação, contato com a pele e se ingerido.
R32	Contato com gases muito tóxicos liberados de ácidos.
R36	Irritante para os olhos.
R36/37/38	Irritante para os olhos, sistema respiratório e pele.
R41	Risco sério de danos aos olhos.
R42	Pode causar sensibilização pela inalação.
R52/53	Nocivo para organismos aquáticos; pode causar cause efeitos adversos, em longo prazo, no ambiente aquático.
R67	Vapores podem causar sonolência e tonturas.
S2	Manter fora do alcance das crianças.
S7	Manter o recipiente bem fechado.
S13	Manter longe de comida, bebida e comida de animais.
S16	Manter longe de fontes de ignição. Não fumar.
S22	Não inalar o pó.
S24/25	Evitar contato com a pele e olhos.
S24	Evitar contato com a pele.
S26	Em caso de contato com os olhos, lavar imediatamente com água abundante e procurar aconselhamento médico.
S36/37	Usar roupas e luvas protetoras e adequadas.
S61	Evitar liberação no meio ambiente. Consultar instruções especiais / ficha de segurança.

6. AMOSTRAGEM E ARMAZENAMENTO, DE ACORDO COM O TIPO DE AMOSTRA BIOLÓGICA

Sangue Total e Creme leucocitário (Buffy coat)

Os melhores resultados são obtidos empregando amostras frescas. Amostras de sangue total (conservadas com EDTA ou citrato) podem ser armazenadas a temperatura ambiente por 2 a 3 horas; para uma armazenagem rápida (até 24 horas) as amostras podem ser estocadas a 4°C. Para longo período de estocagem, é recomendado o congelamento das amostras a -20°C ou -80°C. Congelamento e descongelamentos seguidos antes da extração do DNA devem ser evitados. Se houver a presença de crioprecipitados (formados no descongelamento de amostras congeladas) evitar aspirá-los, pois eles poderão entupir a membrana da Placa de Ligação. Vários tipos de tubos primários, sistema de coleta de sangue e anticoagulantes podem ser usados para a coleta de sangue, com exceção de heparina.

Creme leucocitário é a fração do sangue total rica em células brancas. Para preparar e extrair a camada de creme leucocitário recomenda-se o seguinte processo: usar uma amostra de sangue total

(anticoagulantes: EDTA, citrato, mas não heparina) com uma fração sedimento celular, proveniente de um repouso durante a noite, a 4°C. A camada clara logo abaixo ao plasma é o creme leucocitário contendo leucócitos que podem ser facilmente distinguidos dos eritrócitos da camada inferior. Um fator de enriquecimento de 10 é esperado a partir desse processo, portanto, devido a esse enriquecimento leucocitário, ficar atento para evitar uma sobrecarga no processo de extração de DNA.

Fluido Cerebroespinhal (CSF) e Medula Óssea

Os melhores resultados são obtidos de amostras frescas. As amostras podem ser armazenadas a 4°C, por 2 a 3 horas. Para um período maior, congelar as amostras a -20°C. É comum ocorrer o ressecamento das amostras. As amostras secas devem ser armazenadas em refrigerador a 4°C em ambiente livre de umidade.

Swabs

O protocolo de trabalho pode ser aplicado tanto para amostras frescas de swabs como para amostras secas. Lembrar que amostras secas e armazenadas de swabs frequentemente caracterizam extração de DNA apoptótico (visualizado em gel de agarose como banda padrão típica de DNA apoptótico). O protocolo não foi validado para a extração de DNA a partir de swabs que foram armazenados em tampões de armazenamento.

7. PROCEDIMENTO

O **BIOPUR Kit Extração Mini CENT Centrifugação** abrange as seguintes etapas:

1. Lise da amostra;
2. Ligação do DNA genômico à membrana da Placa de Ligação;
3. Lavagem da membrana e eliminação do etanol;
4. Eluição do DNA genômico.

Lise

Para um melhor resultado, as amostras devem estar em temperatura ambiente antes da lise. As amostras sofrem lise na presença de Tampão de Lise HL e Proteinase K em temperaturas elevadas.

Ligação do DNA genômico

Pela adição de Tampão de Ligação HL ao lisado, serão obtidas condições ótimas para a ligação. As amostras são transferidas para a Placa de Ligação e o DNA genômico irá se ligar à membrana da placa. As condições ótimas de pH e salina garantem que contaminantes (como proteínas, que podem inibir reações de PCR ou outras reações) não sejam retidas pela membrana de sílica.

NOTA: DNA e RNA são purificados em paralelo se ambos estiverem presentes na amostra. Se um DNA genômico livre de RNA for necessário, recomenda-se adicionar 20 µL de Solução estoque RNase A (20 mg/mL) à amostra antes da adição do Tampão de Ligação HL.

Remoção dos Contaminantes Residuais

Os contaminantes são eficientemente removidos usando Tampão de Lavagem I e II, este último com duas lavagens, enquanto o DNA genômico permanece ligado à membrana. Depois da lavagem a membrana deverá ser seca por centrifugação.

Eluição do DNA genômico

O DNA genômico é eluído usando o Tampão de Eluição. O DNA eluído está pronto para uso para diferentes aplicações em Biologia Molecular, e pode ser armazenado entre 4 e 8°C por no mínimo 2 meses, ou por até 5 anos, se armazenado a -20°C.

8. EQUIPAMENTOS E REAGENTES NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

- Centrífuga para microplaca poço fundo (*deep well*);
- Termomixer (56°C);
- Vortex;
- Proveta (250 mL);
- Micropipetas multicanais e monocanais e ponteiras com filtro;
- Reservatórios de reagentes para micropipeta multicanal;
- Etanol P.A.;
- Água (ultrapura, bidestilada ou de injeção);
- PBS 1X (opcional).

9. PREPARO DOS REAGENTES

Kit 1x96 (Amostra)

- Adicionar 1100 µL de água (ultrapura, bidestilada ou de injeção) ao frasco da Proteinase K-Tipo G e misturar cuidadosamente;
- Adicionar 40 mL de etanol P.A. ao Tampão de Lavagem I. Misturar cuidadosamente e manter o recipiente bem fechado;
- Adicionar 105 mL de etanol P.A. ao Tampão de Lavagem II. Misturar cuidadosamente e manter o recipiente bem fechado.

Kit 4x96

- Adicionar 8 mL de água (ultrapura, bidestilada ou de injeção) ao frasco da Proteinase K-Tipo I e misturar cuidadosamente;
- Adicionar 40 mL de etanol P.A. ao Tampão de Lavagem I. Misturar cuidadosamente e manter o recipiente bem fechado;
- Adicionar 105 mL de etanol P.A. ao Tampão de Lavagem II. Misturar cuidadosamente e manter o recipiente bem fechado.

Kit 12x96

- Adicionar 25 mL de água (ultrapura, bidestilada ou de injeção) ao frasco da Proteinase K-Tipo K e misturar cuidadosamente;
- Adicionar 125 mL de etanol P.A. ao Tampão de Lavagem I. Misturar cuidadosamente e manter o recipiente bem fechado;
- Adicionar 287 mL de etanol P.A. ao Tampão de Lavagem II. Misturar cuidadosamente e manter o recipiente bem fechado.

10. PROTOCOLOS

As instruções a seguir são válidas para todos os protocolos.

Antes de iniciar o procedimento:

- Ligar o termomixer a 56°C;
- Aquecer a quantidade necessária do Tampão de Eluição a 56°C para o passo final de eluição.

Nota: As velocidades de rotação (rpm) necessárias podem variar de uma marca de centrífuga para outra.

PROTOCOLO 1

- **Extração de DNA genômico de 200 µL de sangue total humano ou de mamíferos**
- **Extração de DNA genômico de 30 µL de creme leucocitário (buffy coat)**

IMPORTANTE: Aliquotar a quantidade de Tampão de Eluição necessária para o número de amostras e colocar no termomixer a 56°C.

1) Transferir 200 µL de amostra de sangue total ou 30 µL de creme leucocitário em cada poço da Placa de Coleta de 2 mL. Para amostra com volume menor de 200 µL, completar o volume com PBS 1X ou água (ultrapura, bidestilada ou de injeção).

2) Adicionar 200 µL de Tampão de Lise HL e homogeneizar por pipetagem repetitiva. Selar a placa com Filme Adesivo e incubar com agitação por 3 minutos a 56°C ou em repouso por 5 minutos em temperatura ambiente.

3) Adicionar 20 µL de Proteinase K e homogeneizar por pipetagem repetitiva. Selar a placa com Filme Adesivo e incubar com agitação por 5 minutos a 56°C ou em repouso por 10 minutos em temperatura ambiente.

4) Adicionar 200 µL de Tampão de Ligação HL e homogeneizar por pipetagem repetitiva. Cobrir a placa com a Tampa Plástica. Colocar a Placa de Coleta de 2 mL na centrífuga e proceder uma breve centrifugação (centrifugar até 200 x g (1000 rpm*) e parar). Encaixar a Placa de Ligação de DNA-Tipo C sobre a outra (nova) Placa de Coleta 2 mL. Transferir toda a suspensão da Placa de Coleta centrifugada para Placa de Ligação de DNA-Tipo C. Cobrir a Placa de Ligação de DNA-Tipo C com a Tampa Plástica. Colocar todo o bloco (Tampa Plástica + Placa de Ligação de DNA-Tipo C + Placa de Coleta 2 mL) na caçapa da centrífuga e centrifugar a 1.400 – 1.700 x g (3700 – 4000 rpm) por 6 minutos em temperatura ambiente. Retirar todo o bloco da centrífuga e desprezar o filtrado. Reencaixar a Placa de Ligação de DNA-Tipo C na Placa de Coleta 2 mL.

5) Adicionar 600 µL de Tampão de Lavagem I e cobrir a placa com a Tampa Plástica. Colocar todo o bloco (Tampa de Placa + Placa de Ligação de DNA-Tipo C + Placa de Coleta 2 mL) na caçapa da centrífuga e centrifugar a 1.400 – 1.700 x g (3700 – 4000 rpm) por 3 minutos, em temperatura ambiente. Retirar todo o bloco da centrífuga e desprezar o filtrado. Reencaixar a Placa de Ligação de DNA-Tipo C na Placa de Coleta 2 mL. Outra opção, encaixar a placa de ligação de DNA-Tipo C na Placa de Coleta 2 mL que foi usada na etapa de lise.

6) Adicionar 700 µL de Tampão de Lavagem II e cobrir a placa com a Tampa Plástica. Colocar todo o bloco (Tampa Plástica + Placa de Ligação de DNA-Tipo C + Placa de Coleta 2 mL) na caçapa da centrífuga e centrifugar a 1.400 – 1.700 x g (3700 – 4000 rpm) por 3 minutos em temperatura ambiente. Retirar todo o bloco da centrífuga e desprezar o filtrado. Reencaixar a Placa de Ligação de DNA-Tipo C na Placa de Coleta 2 mL.

7) Repetir o passo anterior.

8) Colocar todo o bloco (Tampa Plástica + Placa de Ligação de DNA-Tipo C + Placa de Coleta 2 mL) na caçapa da centrífuga e centrifugar a velocidade máxima por ao menos 10 minutos em temperatura ambiente para eliminar completamente o etanol . Retirar todo o bloco da centrífuga, repousar a Placa de Ligação de DNA-Tipo C sobre uma folha de papel toalha e descartar a Placa de Coleta 2 mL.

9) Encaixar a Placa de Ligação de DNA-Tipo C sobre a Placa de Eluição 0,5 mL. Adicionar 80 a 200 µL de Tampão de Eluição pré-aquecido e incubar por 5 minutos em temperatura ambiente. Cobrir a placa com a Tampa Plástica e colocar todo o bloco (Tampa Plástica + Placa de Ligação de DNA-Tipo C + Placa de Eluição 0,5 mL) na caçapa da centrífuga e centrifugar a 1.400 – 1.700 x g (3700 – 4000 rpm) por 3 minutos. Retirar todo o bloco da centrífuga, e descartar a Placa de Ligação de DNA-Tipo C. Fechar a Placa de Eluição 0,5 mL com Filme Adesivo para uma armazenagem mais segura das amostras de DNA.

NOTA: O DNA pode também ser eluído com pouco (mas não menos que 30 µL) ou grande volume de Tampão de Eluição (dependendo do rendimento esperado ou concentração necessária do DNA).

PROTOCOLO 2

- **Extração de DNA genômico de 25 µL de sangue de não mamífero**

Nota: Se for empregar amostras de aves ou peixes que apresentam eritrócitos nucleados recomenda-se o uso de apenas 10 a 15 µL de amostra.

IMPORTANTE: Aliquotar a quantidade de Tampão de Eluição necessária para o número de amostras e colocar no termomixer a 56°C.

1) Transferir no máximo 25 µL de amostra de sangue de não mamíferos em cada poço da Placa de Coleta 2 mL. Completar o volume das amostras para 200 µL com PBS 1X ou água (ultrapura, bidestilada ou de injeção).

2) Adicionar 200 µL de Tampão de Lise HL e homogeneizar por pipetagem repetitiva. Selar a placa com Filme Adesivo e incubar com agitação por 3 minutos a 56°C ou por 5 minutos em temperatura ambiente.

3) Adicionar 20 µL de Proteinase K e homogeneizar por pipetagem repetitiva. Selar a placa com Filme Adesivo e incubar com agitação por 5 minutos a 56°C ou por 10 minutos a temperatura ambiente.

4) Proceder como descrito no Protocolo 1, etapas 2 a 9.

PROTOCOLO 3

- **Extração de DNA genômico de 200 µL de fluido cerebroespinhal**
- **Extração de DNA genômico de 20 µL de medula óssea**

IMPORTANTE: Aliquotar a quantidade de Tampão de Eluição necessária para o número de amostras e colocar no termomixer a 56°C.

A – Amostras frescas

- Adicionar 200 µL de fluido cerebroespinhal ou
- 20 µL de medula óssea em microtubo de 1,5 mL (não fornecido)

B – Amostras não frescas

- Umedecer a amostra seca com uma gota de PBS 1X
- Adicionar 180 µL de PBS 1X em um microtubo 1,5 mL (não fornecido)
- Raspar a amostra para dentro do tubo e homogeneizar por pipetagem repetitiva.

1) Transferir 200 µL de amostra em cada poço da Placa de Coleta 2 mL. Para amostras com volumes menores de 200 µL, completar o volume com PBS 1X ou água (ultrapura, bidestilada ou de injeção).

2) Adicionar 200 µL de Tampão de Lise HL e homogeneizar por pipetagem repetitiva. Selar a placa com o Filme Adesivo e incubar com agitação por 3 minutos a 56°C ou por 5 minutos a temperatura ambiente.

3) Adicionar 20 µL de Proteinase K e homogeneizar por pipetagem repetitiva. Selar a placa com Filme Adesivo e incubar por 5 minutos a 56°C ou por 10 minutos a temperatura ambiente.

4) **Proceder como descrito no Protocolo 1, etapas 4 a 9.**

PROTOCOLO 4

- **Extração de DNA genômico de swabs ou de solução de enxágue de swabs**

IMPORTANTE: Aliquotar a quantidade de Tampão de Eluição necessária para o número de amostras e colocar no termomixer a 56°C.

A – Amostras de swabs sem meio de transporte

1) Adicionar 180 µL de PBS 1X ou água (ultrapura, bidestilada ou de injeção) a um microtubo 1,5 mL (não fornecido). Inserir o swab no microtubo e incubar por 3 minutos.

2) Adicionar 200 µL de Tampão de Lise HL e homogeneizar por pipetagem repetitiva. Incubar o microtubo com agitação por 3 minutos a 56°C ou por 5 minutos a temperatura ambiente.

3) Adicionar 20 µL de Proteinase K e homogeneizar por pipetagem repetitiva. Incubar com agitação por 15 minutos a 56°C.

NOTA: Para obter o máximo de rendimento de DNA é imprescindível deixar o swab no tubo durante todo o tempo de incubação para a lise da amostra. Pode-se cortar a haste do swab para que seja possível fechar o microtubo durante a incubação, porém a lise também pode ser feita com o microtubo aberto.

1) Após a reação de lise pressionar cuidadosamente o swab na parede do tubo antes de descartá-lo. Transferir o lisado para a Placa de Coleta 2 mL.

2) **Proceder como descrito no Protocolo 1, etapas 4 a 9.**

B – Amostras de swabs com meio de transporte ou solução de enxágue de swabs

1) Se for utilizado com meio para transporte, verificar a composição do meio e entrar em contato com o distribuidor para certificar-se da compatibilidade das amostras com aos reagentes do kit.

2) Para obter a solução de enxágue, enxaguar cada swab com 200-500 µL de água (ultrapura, bidestilada ou de injeção) ou PBS 1X e homogeneizar por agitação.

3) Transferir 200 µL da solução de enxágue para um poço da Placa de Coleta de 2 mL.

4) Adicionar 200 µL de Tampão de Lise HL e homogeneizar por pipetagem repetitiva. Selar a placa com Filme Adesivo e incubar com agitação por 3 minutos a 56°C ou por 5 minutos em temperatura ambiente.

5) Adicionar 20 µL de Proteinase K e homogeneizar por pipetagem repetitiva. Selar a placa com Filme Adesivo e incubar por 5 minutos a 56°C ou por 10 minutos em temperatura ambiente.

6) **Proceder como descrito no Protocolo 1, etapas 4 a 9.**

11. CONTROLE DE QUALIDADE

O fabricante e o distribuidor garantem a função correta do **BIOPUR Kit Extração Mini CENT Centrifugação** para as aplicações conforme descritas neste manual, assegurando um produto de consistente qualidade.

12. INFORMAÇÕES PARA PEDIDO

PRODUTO	TAMANHO DA EMBALAGEM	CÓDIGO DO PRODUTO
BIOPUR Kit Extração Mini CENT – Centrifugação– 4X96	384 extrações	BP079-384
BIOPUR Kit Extração Mini CENT – Centrifugação – 12X96	1152 extrações	BP080-1152

13. INFORMAÇÕES DO FABRICANTE

SR Comércio de Produtos para Laboratórios Ltda - EPP
Rua Paraíso do Norte, 866 - CEP: 83.324-221 – Pinhais - PR
CNPJ: 04.645.160/0001-49
Responsável Técnica: Franciele Camila Kimura - CRF/PR: 19247

14. DISTRIBUIDOR

Biometrix Diagnóstica Ltda.
Rua Estrada da Graciosa, 1081, Curitiba – Paraná – Brasil - CEP: 82.840-360
Tel.: (41) 2108-5250
Fax: (41) 2108-5252
DDG: 0800 726 0504
E-mail: biometrix@biometrix.com.br
Site: www.biometrix.com.br
CNPJ: 06.145.976/0001-39
Responsável Técnica: Flávia Stival – CRF/PR: 26565

Aprovação:
04/07/2014

X

Rafaela Wassmansdorf
Laboratório
Assinado por: rwassmansdorf